

バンコマイシン耐性腸球菌 の最新動向

国立感染症研究所
薬剤耐性研究センター
鈴木里和

バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）の基本

VRE近年の話題

- 菌種同定について
- バンコマイシン耐性遺伝子について
- 我が国のVRE分離状況
- 海外のVRE分離状況

VREの解析について

感染症発生動向調査で報告を求めている 薬剤耐性菌感染症

5類全数

院内感染の原因となる病原体

カルバペナム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症

バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 感染症

薬剤耐性アシネトバクター (MDRA) 感染症

バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (VRSA) 感染症

5類基幹定点

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)感染症

薬剤耐性緑膿菌(MDRP)感染症

ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)感染症

市中感染症の病原体
ワクチンあり

バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）

感染症法の届出基準 5類全数（2014.9.19～）

腸球菌かつ

	最小発育阻止濃度 (MIC)
バンコマイシン	$\geq 16\mu\text{g/mL}$

上記の薬剤耐性を示す腸球菌が分離された検査材料が

- ・通常無菌的であるべき検体（血液、腹水、胸水、髄液その他）の場合
→ 上記を満たす株が分離された時点で届出対象となる
- ・通常無菌的ではない検体（喀痰、膿、尿その他）の場合
→ 分離菌が感染症の起原因菌と判定された場合、届出対象となる

腸球菌 *Enterococcus*

- グラム陽性球菌
- 腸球菌属—多くの菌種が含まれる。下記4菌種は重要。
 - E. faecalis*…臨床検体より分離される腸球菌の80-90%
 - E. faecium*…臨床検体より分離される腸球菌の5-10%、糞便分離多い
 - E. gallinarum* バンコマイシンに自然耐性
 - E. casseliflavus* バンコマイシンに自然耐性
- 腸管常在菌叢の一つ
 - 健常人の便培養で分離される（注：感性の腸球菌。VREではない）
 - 尿検体に混入することあり
 - 動物腸管・食品・環境などからも分離される
- 日和見感染症の病原体
 - 侵入門戸：尿路、血管内カテーテル、腹腔内、骨盤、創部
 - 感染症：**心内膜炎**、尿路感染症、腹腔・骨盤内感染症など
 - 注：腸球菌による腸炎は無い・腸球菌感染で下痢症状は呈さない
- 治療：免疫力の低下した患者が発症するため、抗菌薬による治療が必要。
 - 腸球菌は生来多くの抗菌薬（セフェム系やカルバペネム系）に耐性の**
ため*E. faecium*, *E. faecalis*に安定した抗菌力をもつバンコマイシン
は極めて重要な治療薬

バンコマイシン耐性腸球菌 VRE

- **バンコマイシン耐性遺伝子**を持つことにより、バンコマイシンに耐性を示す
- 異なる型があるが、主なものは下記の3型

耐性型	<u>VanA</u>	VanB	VanC
薬剤耐性	VCM 耐性 TEIC 耐性	VCM 耐性 TEIC 感性	VCM 中等度耐性 TEIC 感性
耐性遺伝子	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>vanC1</i> <i>vanC2/3</i>
耐性遺伝子の存在部位	プラスミド /染色体	プラスミド /染色体	染色体
耐性遺伝子の伝達性	あり (獲得耐性)	あり (獲得耐性)	なし <u>(自然耐性)</u>
分離菌種	<u><i>E. faecium</i></u> <u><i>E. faecalis</i></u> <i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. avium</i> <i>E. durans</i> 等	<u><i>E. faecium</i></u> <u><i>E. faecalis</i></u> <u><i>E. durans</i></u> <i>E. gallinarum</i> 等	<i>E. gallinarum</i> (<i>vanC1</i>) <i>E. casseliflavus</i> (<i>vanC2/3</i>)

VCM: バンコマイシン

TEIC: テイコプラニン (バンコマイシンと同じグリコペプチド系抗菌薬)

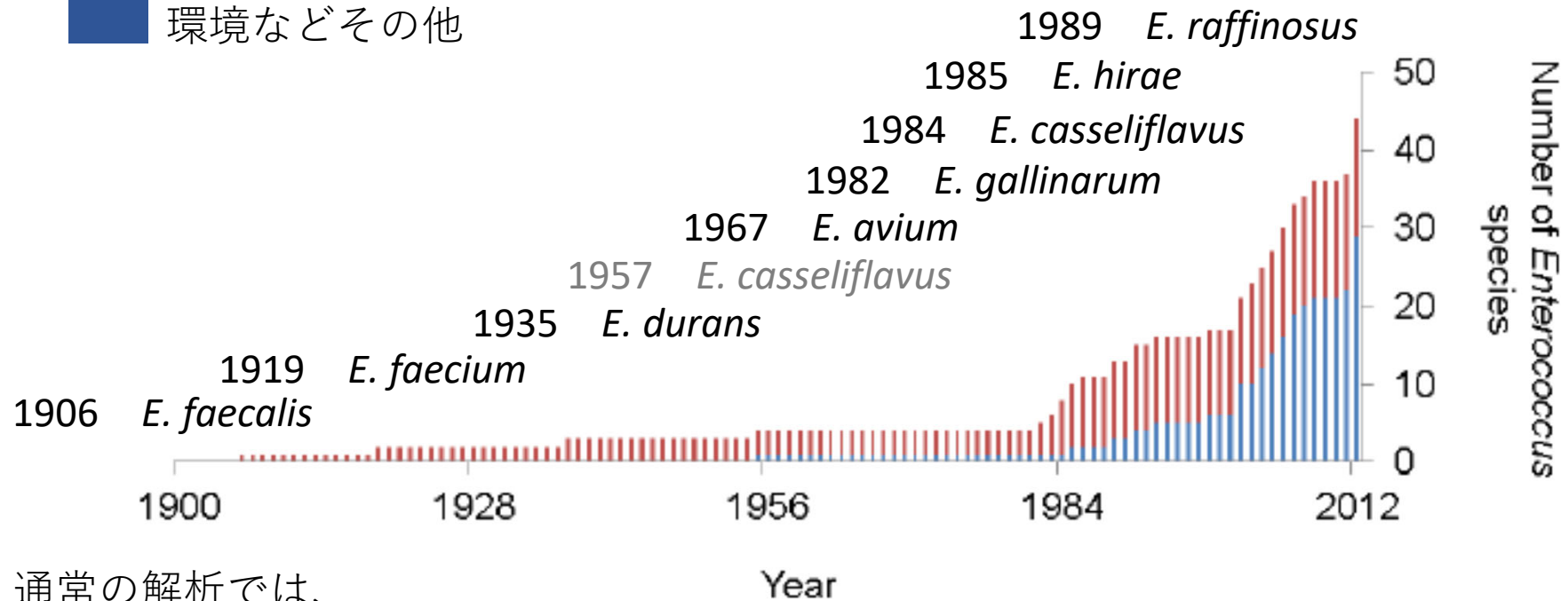
腸球菌属 *genus Enterococcus*

2021年2月8日現在 60菌種 増え続けている

LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature
<https://www.bacterio.net/genus/enterococcus#r>

■ ヒトの感染症と関連
■ 環境などその他

1984 group D streptococci から *Enterococcus* 属に



通常の解析では、

<i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. raffinosus</i>
<i>E. faecium</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. avium</i>	<i>E. hirae</i>

の8種を同定可能にしておく

腸球菌：菌種の同定 従来の方法

- 臨床現場：自動検査機器－生化学性状による同定

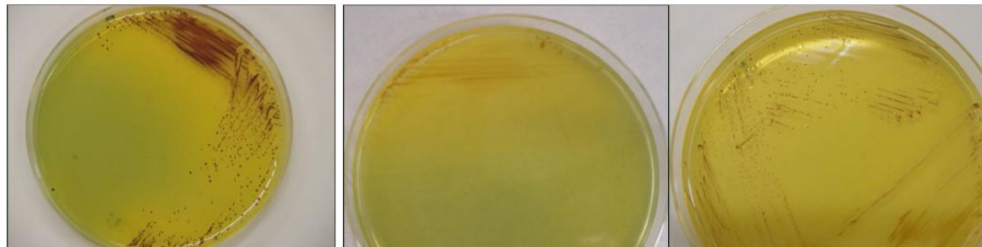
E. faecium ,*E. faecalis*の同定は一般的に問題なし

スクリーニング培地

- EF培地

*E. faecalis*の赤色は特徴的。その他はやや見分けにくい場合あり

コロニーの色調	菌種
暗赤褐色	<i>Enterococcus faecalis</i>
黄色	<i>Enterococcus faecium</i>
褐色	その他の菌種



Enterococcus faecalis

Enterococcus faecium

Enterococcus gallinarum

- VRE選択培地 (バンコマイシン選択＋コロニー色調による菌種推定)

BD Vancomycin Resistant Enterococci Selective Agar

クロモアガー・VREスクリーン培地

腸球菌：菌種の同定 現在主流となりつつある方法

- **質量分析(MALDI-TOF MS)** すべてScore2.0以上で同定可

E. faecalis *E. gallinarum* *E. durans* *E. raffinosus*

E. faecium *E. casseliflavus* *E. avium* *E. hirae*

*同定スコアが低い場合は蟻酸抽出法を使用。

- **分子生物学的手法**

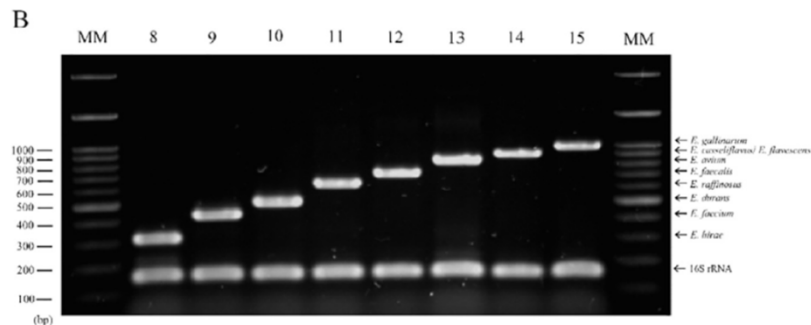
E. faecium と *E. faecalis* は

- **菌種特異的D-ala:D-ala ligase genes (*ddl*)** 検出マニュアルに記載

- 16S rRNA シークエンス

- *E. casseliflavus* と *E. gallinarum* のなど一部で菌種レベルの鑑別ができない

- manganese-dependent superoxide dismutase (*sodA*) genes
- RNA polymerase α -subunit (*rpoA*)
- ATP synthase α -subunit (*atpA*)
- elongation factor Tu (*tufA*) 等



Nomura *et al.*

Journal of Microbiological Methods 145

(2018) 69–72

菌名の変更

- *E. flavescens* は *E. casseliflavus* と同種

Naser et al. **Reclassification of *Enterococcus flavescens* Pompei et al. 1992 as a later synonym of *Enterococcus casseliflavus* (ex Vaughan et al. 1979) Collins et al. 1984 and *Enterococcus saccharominimus* Vancanneyt et al. 2004 as a later synonym of *Enterococcus italicus* Fortina et al. 2004.** Int J Syst Evol Microbio.2006

2000年代半ばごろまでの文献には *E. flavescens* が生来 VanC3 を持つ VRE として記載されていることが多い。

そのため *vanC2/C3* とまとめて表記することもある。

TABLE 2. Characteristics of phenotypes of glycopeptide-resistant enterococci^a

Characteristic	Phenotype				
	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE
Vancomycin MIC (μg/ml)	64->1,000	4-1,024	2-32	128	16
Teicoplanin MIC (μg/ml)	16-512	≤0.5	≤0.5	4	0.5
Most frequent enterococcal species	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i> , <i>E. casseliflavus</i> , <u><i>E. flavescens</i></u>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>
Genetic determinant	Acquired	Acquired	Intrinsic	Acquired	Acquired
Transferable	Yes	Yes	No	No	No

^a Adapted in 2000 from reference 109 with permission; original version Copyright © 1996, Massachusetts Medical Society (all rights reserved).

The nucleotide sequences of the *vanC-1* gene in *E. gallinarum*,
the *vanC-2* gene in *E. casseliflavus*, and the *vanC-3* gene in *E. flavescens*

バンコマイシン耐性遺伝子

 国内の臨床分離株より検出あり

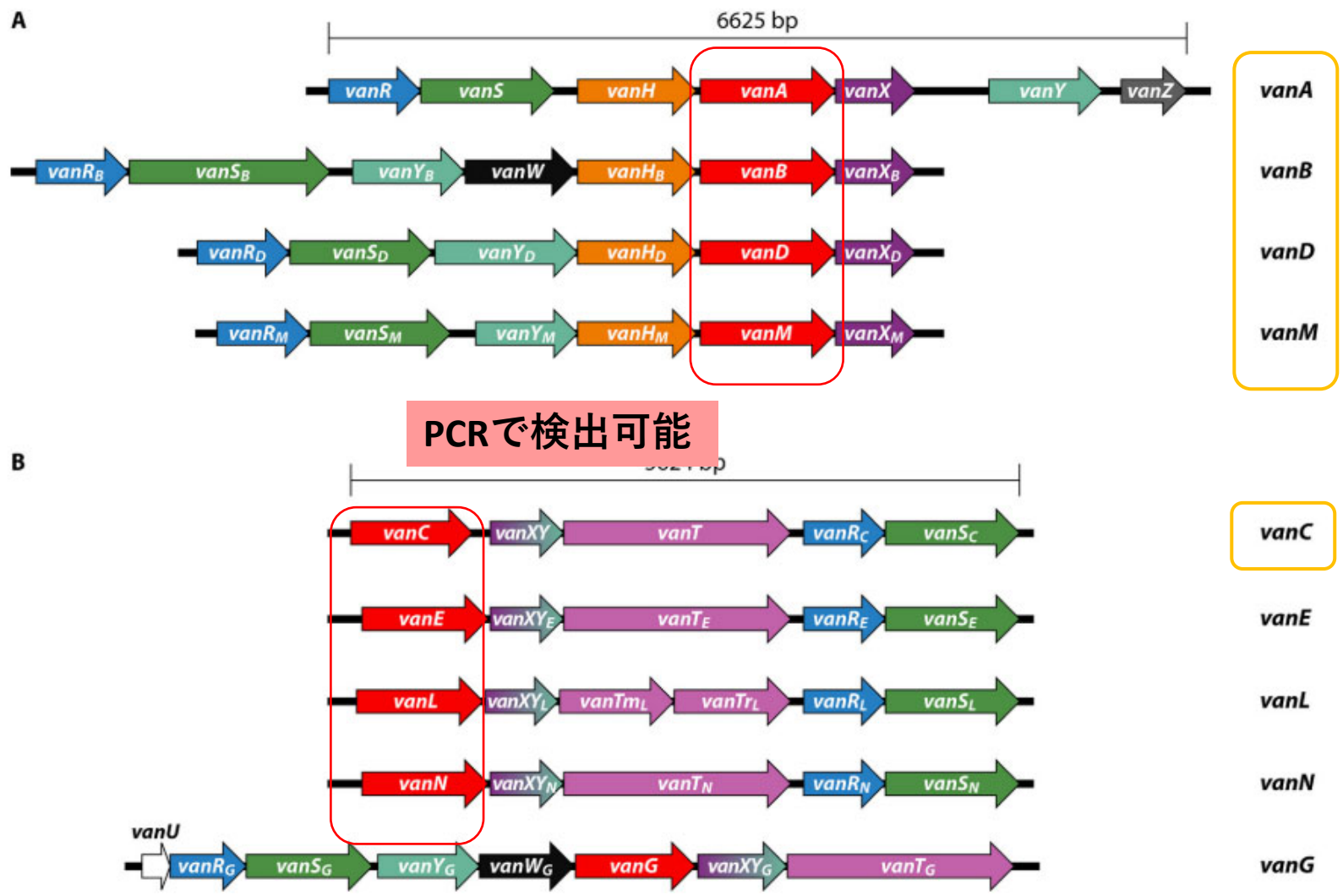


FIG 2 Depictions of known glycopeptide resistance operons. (A) The four glycopeptide resistance operons that yield peptidoglycan precursors terminating in D-Ala-D-Lac. Arrows reflect the directions of transcription and relative sizes of the open reading frames. (B) The five glycopeptide resistance operons that yield peptidoglycan precursors terminating in D-Ala-D-Ser. See the text for descriptions of the open reading frame roles.

Table 1. Types of resistance to glycopeptides in enterococci^{6,16-18}

	Acquired resistance								Intrinsic resistance
	high level		variable	moderate	low level				low level
	VanA	VanM	VanB	VanD	VanE	VanG	VanL	VanN	VanC1/C2/C3
Susceptibility									
Vancomycin	R	R	r-R	R	r	r	r	r	r
Teicoplanin	R	R	S	r-R	S	S	S	S	S
Transferability	+	+	+	-	-	+	-	+	-
Main enterococcal species	A/B ^a	A	A/B	A/B	B	B	B	A	G/D
Expression	I	?	I	C	I/C	I	I	C	C/I
Genetic location	Plasmid (Chr)	Plasmid (Chr)	Chr (plasmid)	Chr (plasmid)	Chr	Chr	?	Chr	Chr
Precursors end	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser

R, high level of resistance (MIC >16 mg/L); r, low level of resistance (MIC=8-16 mg/L); S, susceptible; A, *E. faecium*; B, *E. faecalis*; G, *E. gallinarum*; D, *E. casseliflavus*; I, inducible; C, constitutive; Chr, chromosome.

^aAlso other enterococcus species.

Cattoir, V. and R. Leclercq (2013). J Antimicrob Chemother 68(4): 731-742.

薬剤感受性試験でVREかつvanA, vanB,ともに陰性のときは vanM, vanDを確認

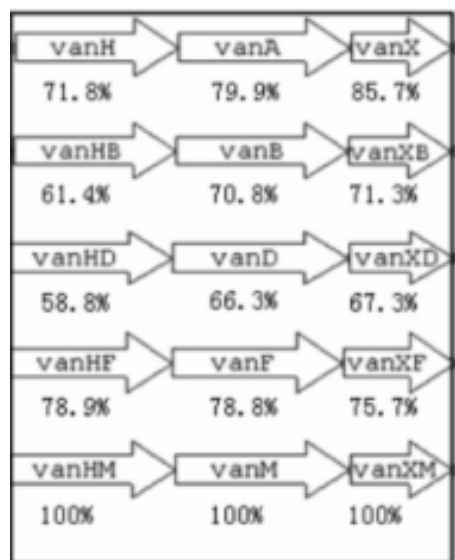
バンコマイシン耐性型	A	M	B	D	E G L N	C
バンコマイシン	高度耐性	高度耐性	高度耐性-中等度耐性	高度耐性	中等度耐性	中等度耐性
テイコプラニン	高度耐性	高度耐性	感性的	高度耐性-中等度耐性	感性的	感性的

■ 高度耐性 MIC>16mg/L
 ■ 高度耐性-中等度耐性
 ■ 中等度耐性 MIC 8-16mg/L
 ■ 感性的

実際にはVanAやVanMでもバンコマイシンのMICが4-8mg/Lの株や
テイコプラニン感性的の株あり

中国、上海におけるVanM型*E. faecium*の流行

VanM：2010年中国の臨床分離*E. faecium*で報告（2006年分離）



• *vanA*と相同性79.9%

• バンコマイシン、
テイコプラニン
に高度耐性

Gene cluster type	MLST sequence type	PFGE type	M	
			VAN	TEC
<i>vanA</i>	ST17	A	>256	96
<i>vanA</i>	ST17	B	>256	96
<i>vanA</i>	ST17	B	>256	64
<i>vanA</i>	ST78	A	>256	64
<i>vanM</i>	ST78	C	>256	96
<i>vanM</i>	ST78	C	>256	64
<i>vanM</i>	ST78	D	>256	256
<i>vanM</i>	ST78	E	>256	>256
<i>vanM</i>	ST341	F	>256	0.75
<i>vanM</i>	ST18	G	>256	>256
NA	NA	NA	0.75	0.38
<i>vanM</i>	NA	NA	>256	48

Xu, X., et al. (2010) AAC 54(11): 4643-4647.

2011

シンガポールで渡航歴のない入院患者より
分離VanM型*E. faecium* ST78（直腸スワブ）

Teo, J. W., et al. (2011) J Clin Microbiol 49(12): 4297-4298.

2015

上海9つの病院のVRE70株の遺伝子型調査
45株(64.3%)がVanM

Chen, C., et al. (2015). AAC 59(12): 7795-7798.

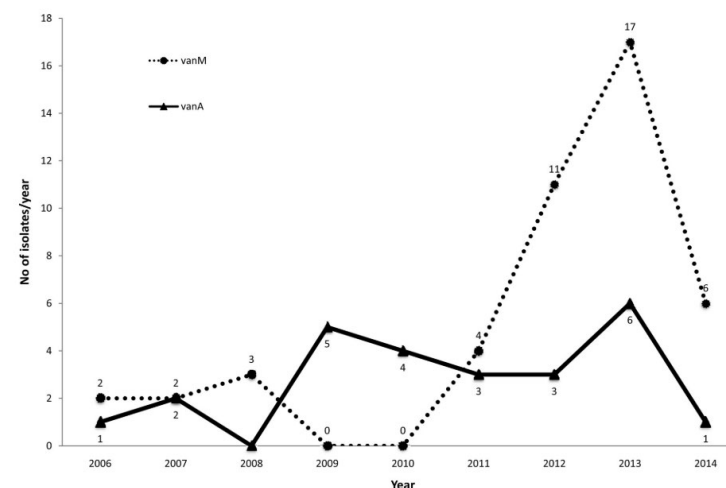
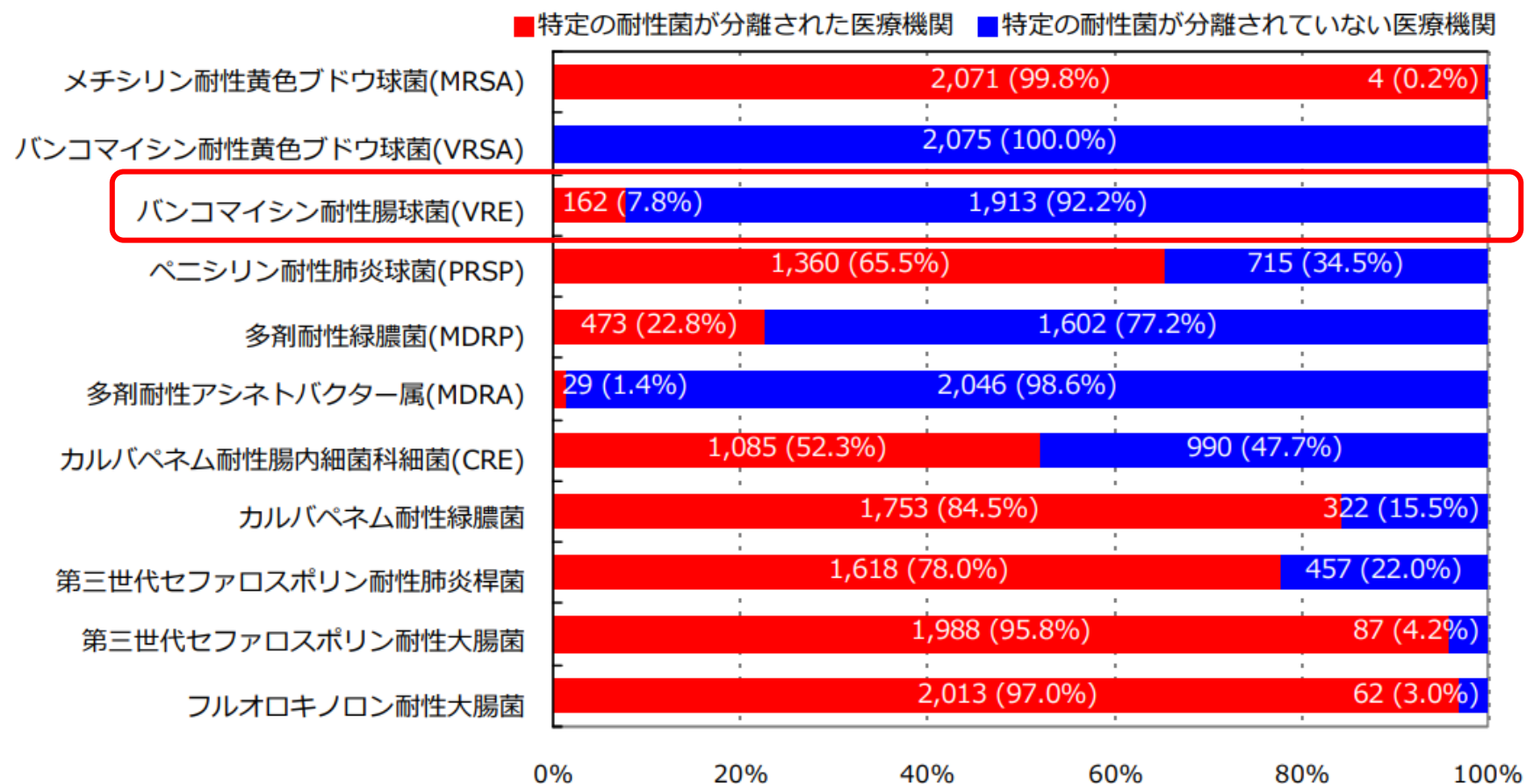


FIG 1 Distribution of vancomycin-resistant genes in 70 VREm strains isolated from nine hospitals, Shanghai, China, 2006 to 2014.

我が国のVRE蔓延状況

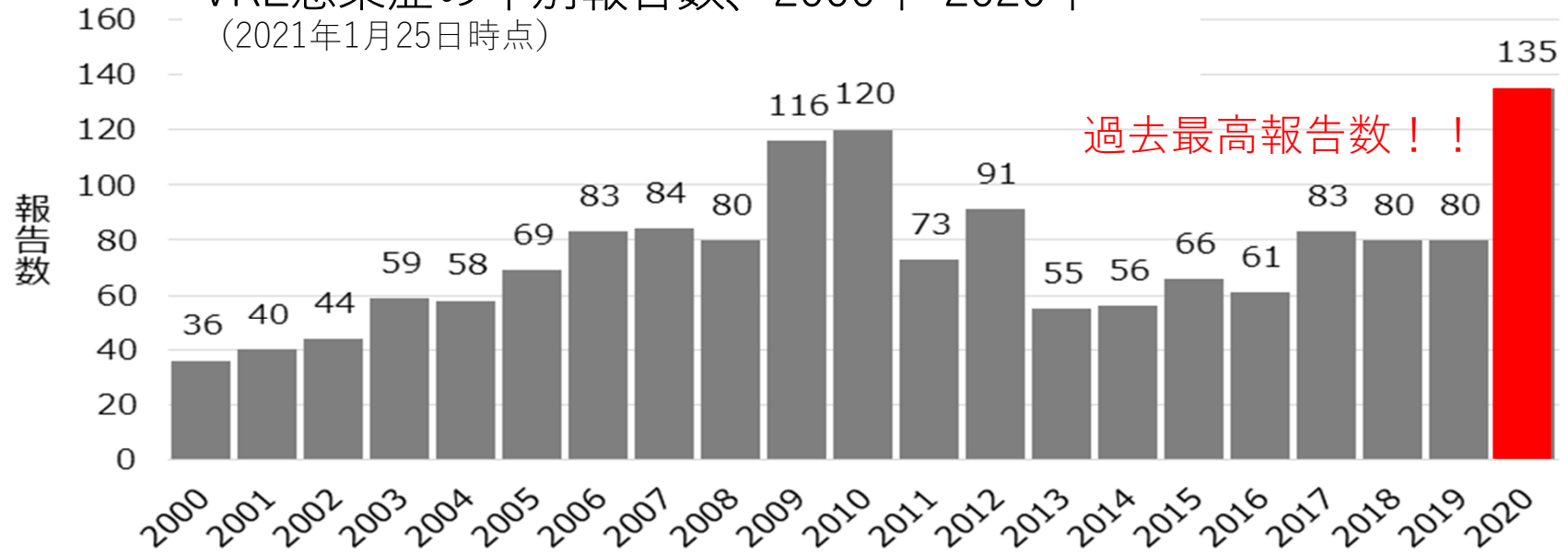
2019年 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合 (N=2,075)



- 日本ではほとんど（9割以上）の病院でVREは分離されない
- VREが恒常的に分離されている病院（地域）は院内感染（地域内流行）が起きている

感染症発生動向調査 VRE感染症の年別報告数、2000年-2020年

(2021年1月25日時点)



1996年 日本における最初の分離
2000年代前半

- 療養型施設における院内感染
- 地域サーベイランスでの検出なし

2000年代後半

- 急性期医療機関における院内感染
- 地域サーベイランスで検出あり
- 国内でのVRE対策が進む

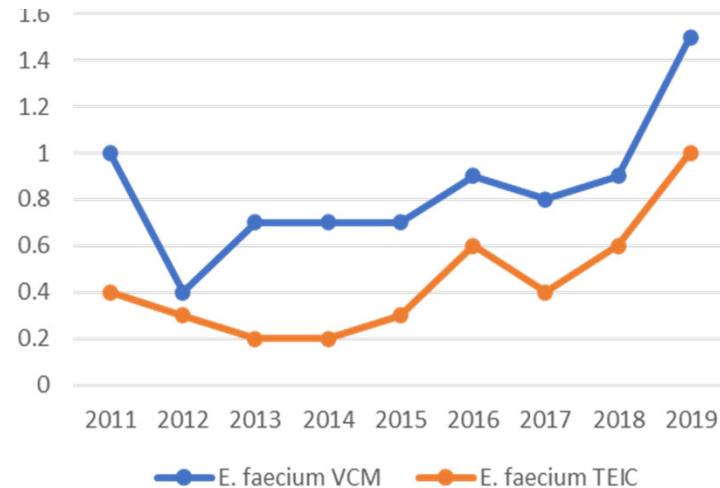
2010年代前半

- VRE報告数減少傾向に

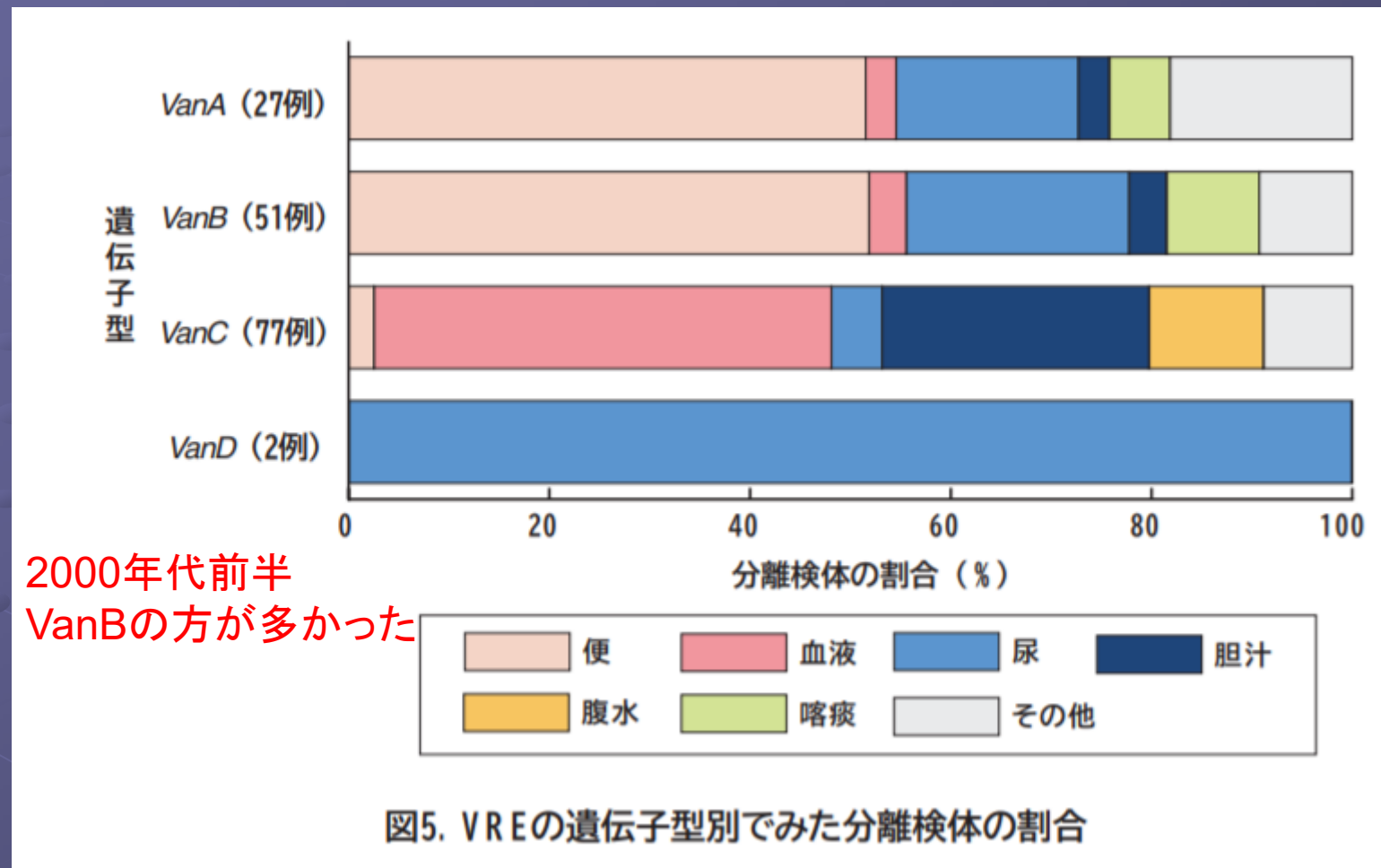
2010年代後半

- VRE報告数が再び増加傾向**
- 急性期病院における複数の院内感染事例発生**

JANIS *E. faecium*のバンコマイシン・テイコプラニン耐性率が上昇



1999年～2004年 VRE感染症 患者報告記載のバンコマイシン耐性遺伝子型



感染症法の届け出基準にvanA/vanB /vanC陽性が含まれていた

2000年代わが国におけるVRE集団発生事例

国立感染症研究所 FETPによる調査事例


	発生時期・期間	病院特性	病床数	症例数
A病院	1998年-2002年	<u>長期療養型</u>	107	33
B病院	2004年4月-6月	<u>精神病床</u>	223	11
C病院	2004年2月-8月	急性期	108	24
D病院	2004年4月-9月	急性期・ <u>長期療養</u>	410	7
E病院	2005年1月-8月	急性期・ <u>長期療養</u>	698	70
F病院	2006年6月-2007年	急性期	420	約40
G病院	2007年3月-5月	急性期	1440	55

2000年代前半 長期療養型病床を多く持つ、比較的規模の小さな医療機関
2000年代後半 急性期医療機関

	菌種	耐性遺伝子	PFGE
A病院	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. avium</i> , <i>E. gallinarum</i>	VanA	多型
B病院	<i>E. faecalis</i>	VanB	単一
C病院	<i>E. faecium</i>	VanB	単一
D病院	<i>E. faecalis</i>	VanB	単一
E病院	<i>E. faecium</i>	VanA	2タイプ
F病院	<i>E. faecium</i>	VanA	多型
G病院	<i>E. faecium</i>	VanA	多型

PFGEパターンは必ずしも同一ではない。異なる菌種のアウトブレイクもあり
 → 発症例が少なく探知に遅れが出やすい
 収束まで1-2年かかる時がある

2019年急性期基幹病院での大規模VRE院内感染が複数発生


 産経ニュース

青森でVRE検出相次ぐ 院内感染か

青森県八戸市の八戸赤十字病院は12日、入院患者の男女71人から特定の抗生物質が効かない... 青森市の県立中央病院でも、昨年9月から今月8日までに入院患者16人からVREを検出したことが同病院への取材で分かつ...

2019/02/12

VanA *E. faecium*

 産経ニュース


患者84人がVRE集団感染、静岡済生会総合病院

静岡市駿河区の静岡済生会総合病院は27日、県庁で記者会見を開き、42～98歳の入院患者84人が特定の抗生物質が効きにくいバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）に感染したと発表した。このうち3人が発症し、



2019/05/27

VanA *E. faecium*

 産経ニュース

入院患者22人がVRE感染 奈良県総合医療センター

奈良県総合医療センターは12日、県庁で記者会見を開き、50～90代の入院患者22人が特定の抗生物質が効きにくいバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）に感染したと発表した。感染者のうち2人が死亡した...

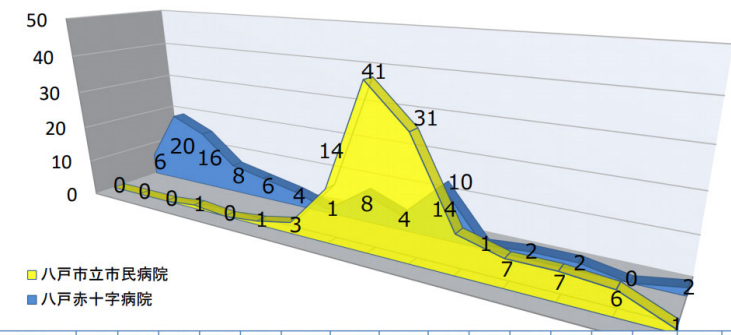
2019/06/13

VanA *E. faecium*



八戸市立市民病院 八戸赤十字病院におけるVRE新規陽性者の推移

(2 医療機関からの保菌者数等報告より)

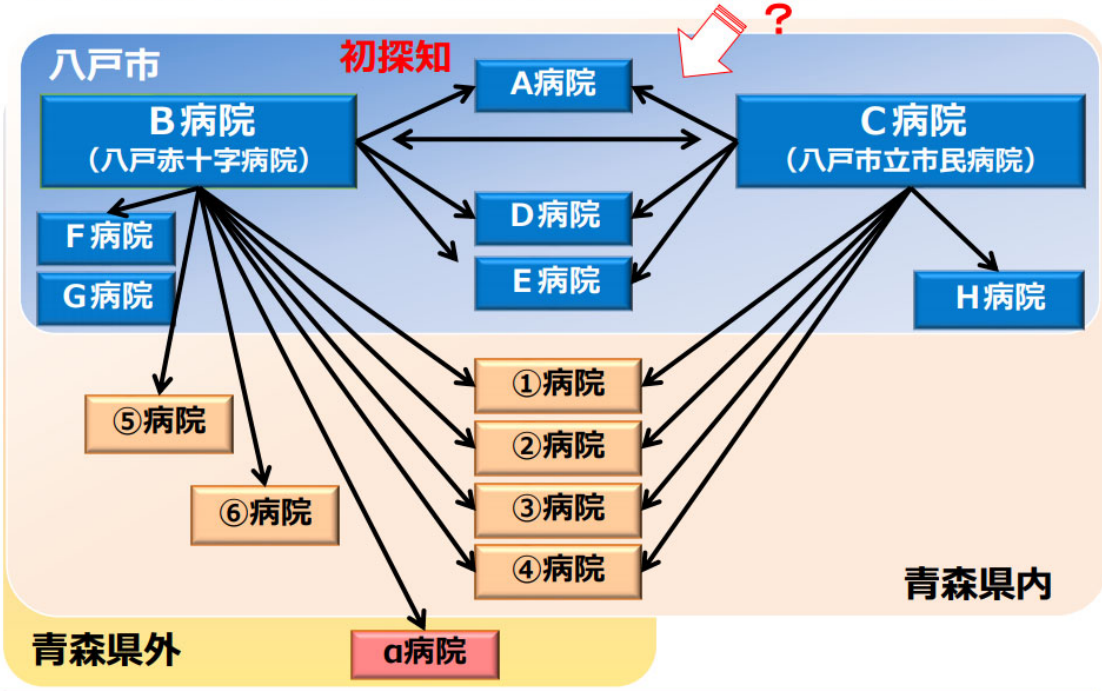


年月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	合計
八戸市立市民病院	0	0	0	1	0	1	3	14	41	31	10	7	7	6	1	122
八戸赤十字病院	6	20	16	8	6	4	1	8	4	14	1	2	2	0	2	94

2019年度
危機管理研修会
VREアウトブレイクに対する八戸市保健所の対応
八戸市保健所



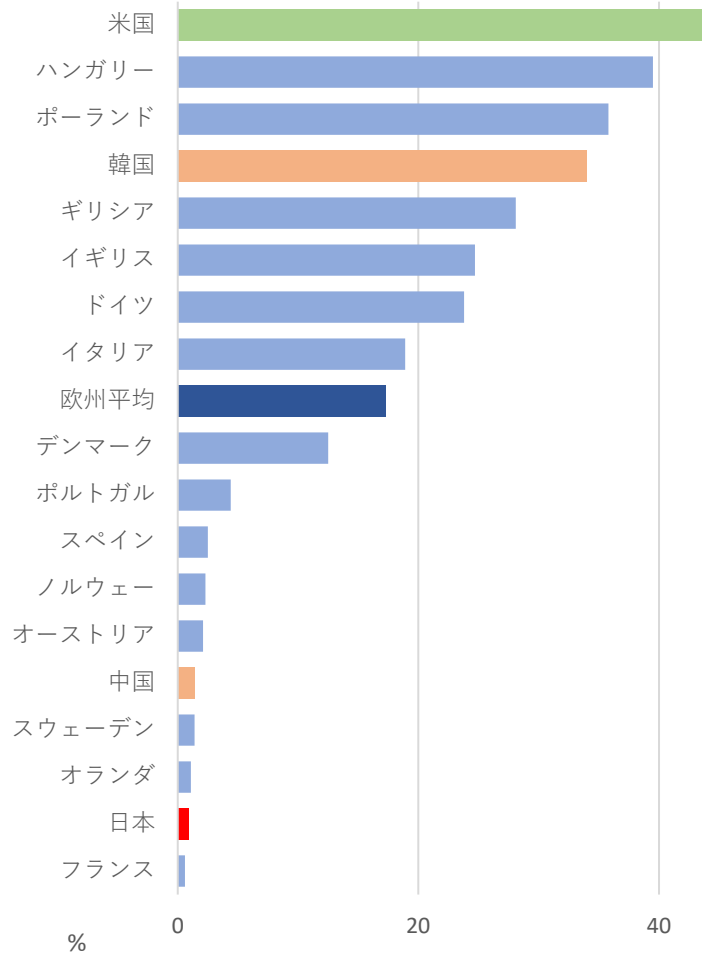
国立感染症研究所の調査により見えてきた地域への広がり



- スクリーニングにより数十人単位での陽性者確認
- 基幹病院が救急患者受け入れの一部制限措置を実施
- 転院などにより県内外の病院に拡散

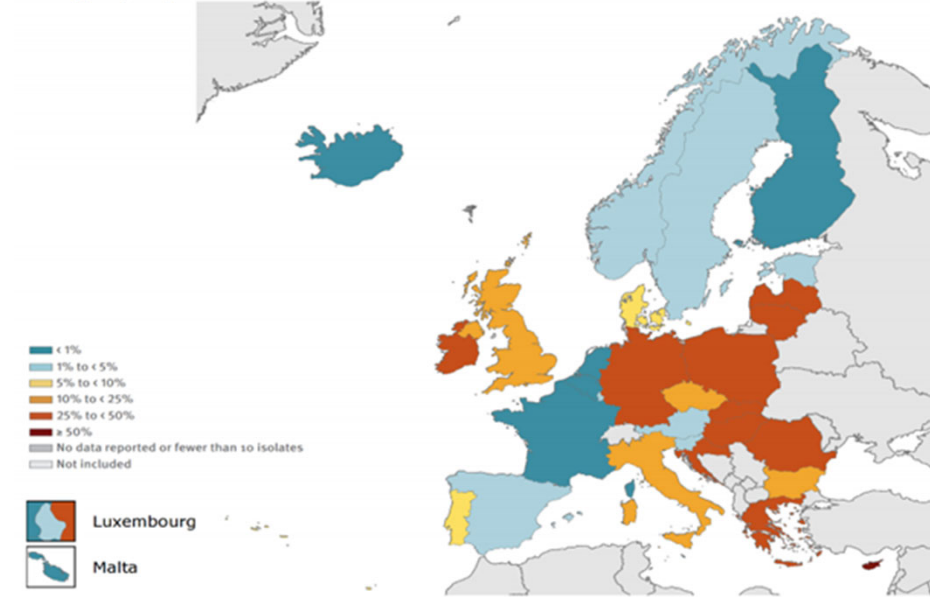
海外のVREーヨーロッパもVRE増加中

*E. faecium*の バンコマイシン耐性率(%)

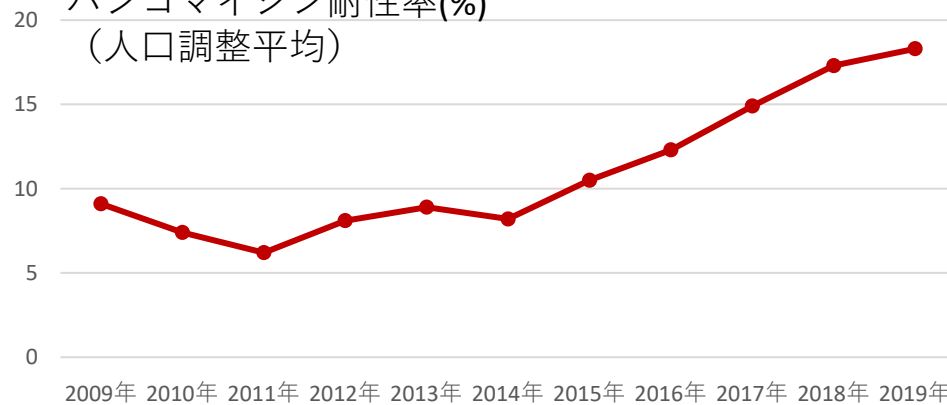


日本はVREのコントロールができていいる国の一つ

Figure 10. *Enterococcus faecium*. Percentage of invasive isolates resistant to vancomycin, by country, EU/EEA, 2019

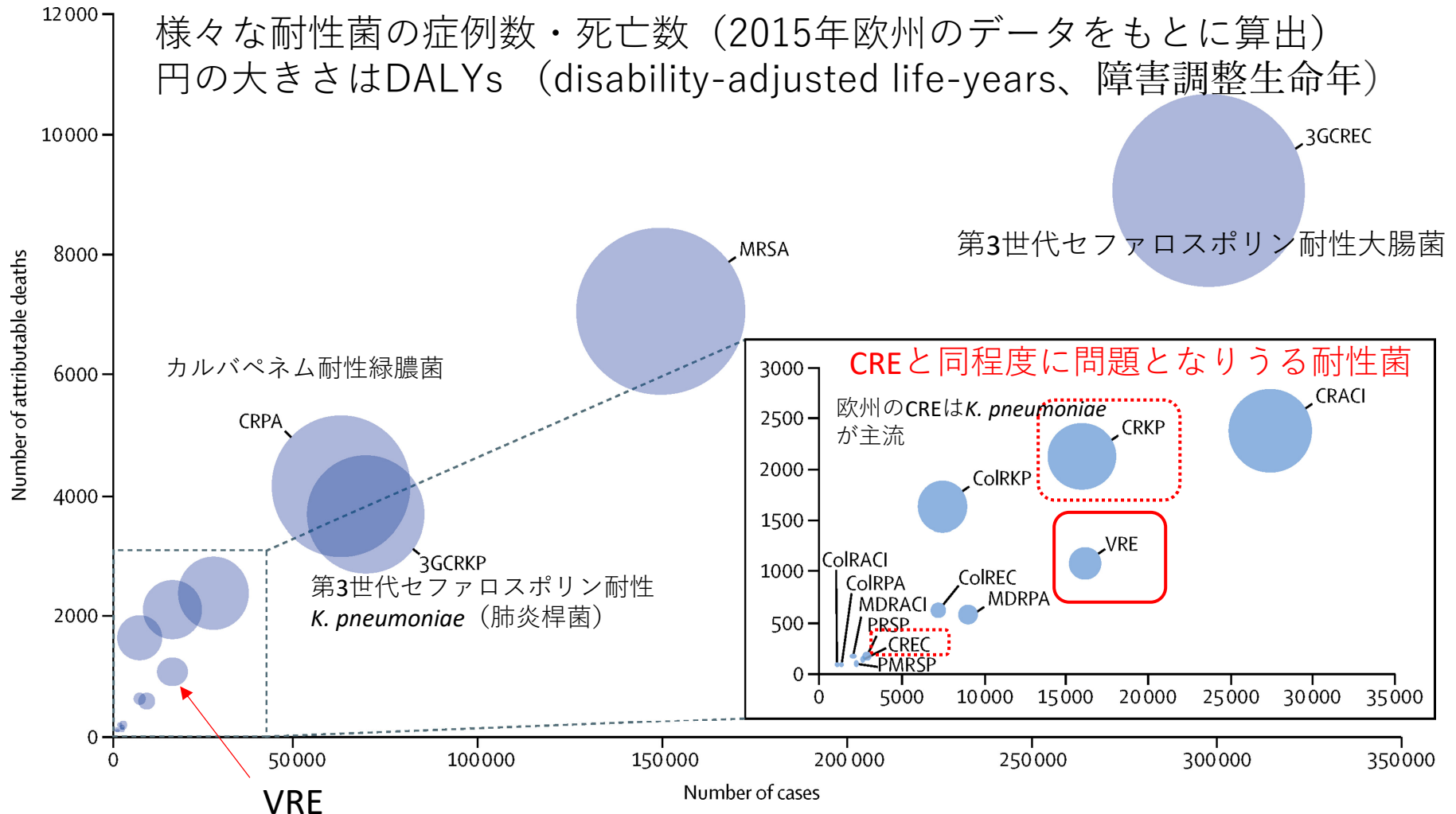


欧州における侵襲性感染症由来*E. faecium* バンコマイシン耐性率(%) (人口調整平均)



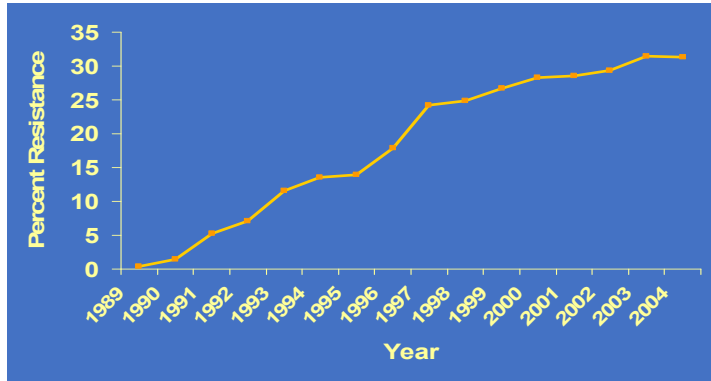
VRE再増加の要因は不明

- 2010年代のVRE減少に伴う対策のゆるみ？
- 新たな流行株の出現？



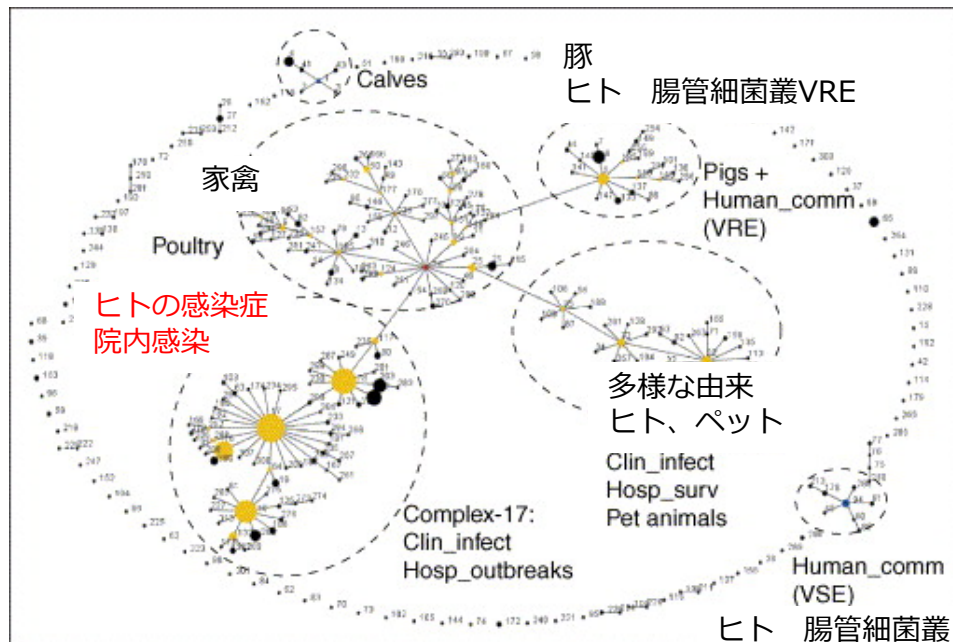
1990年代から2000年代 VREの世界的流行

米国はVREが最も蔓延している国



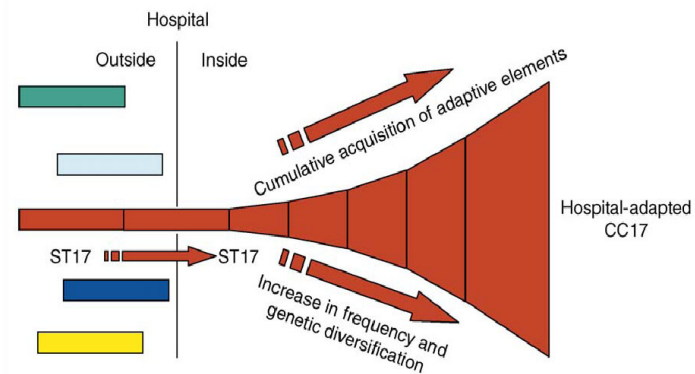
- 米国では1990年代に医療環境に出現し急速に蔓延した
- 米国での市中の健常人の保菌率は低い
- 欧州では市中の健常人に保菌者がいるにもかかわらず、医療環境での拡散は米国より低い

MLSTによって *E. faecium* をタイピング → 病院環境に適応した流行株の存在が明らかに



ヒト 腸管細菌叢
バンコマイシン感性菌

ST17および関連タイプ CC17



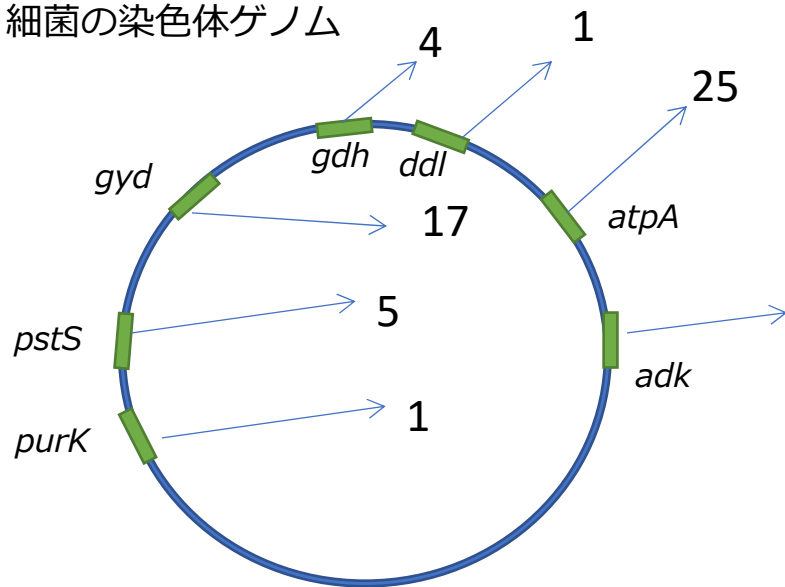
Current Opinion in Microbiology

Multilocus Sequence Typing (MLST)

同一菌種内で型別する手法

国や地域間といった大きな枠組みでの比較に有用

細菌の染色体ゲノム



菌の生存に必須の7つの遺伝子について
その配列ごとに数字を割りふる。

```
CCTAAAAAAGTATTTGATCAATGTGAAGTTCTTTGCTTTATCCGATGTTTGTCAAA
CCGGCGAATATGGGTTCTAGTGTTCGGCATTACAAAAGCAGAAAACCGAGAAGAG
CTGCAAAATGCTTTAGCAACAGCCTATCAGTATGATTCTCGAGCAATCGTTGAACA
AGGAATTGAAGCGGCGGAAATCGAAGTTGCTGTATTAGGAAATGAAGACGTTTCG
GACGACTTTGCCTGGTGAAGTCGTAAAAGACGTAGCATTCTATGATTATGAAGCA
AAATATATCAATAATAAAATCGAAATGCAGATTCCAGCCGAAGTGCCAGAAGAAGT
TTATCAAAAAGCGCAAGAGTAC
```

6

```
CCTAAAAAAGTATTTGATCAATGTGAAGTTCTTTGCTTTATCCGATGTTTGTCAAA
CCGGCGAATATGGGTTCTAGTGTTCGGCATTACAAAAGCAGAAAACCGAGAAGAG
CTGCAAAATGCTTTAGCAACAGCCTATCAGTATGATTCTCGAGCAATCGTTGAACA
AGGAATTGAAGCGCGCGAAATCGAAGTTGCTGTATTAGGAAATGAAGACGTTTCG
GACGACTTTGCCTGGTGAAGTCGTAAAAGACGTAGCATTCTATGATTATGAAGCA
AAATATATCAATAATAAAATCGAAATGCAGATTCCAGCCGAAGTGCCAGAAGAAGT
TTATCAAAAAGCGCAAGAGTAC
```

8

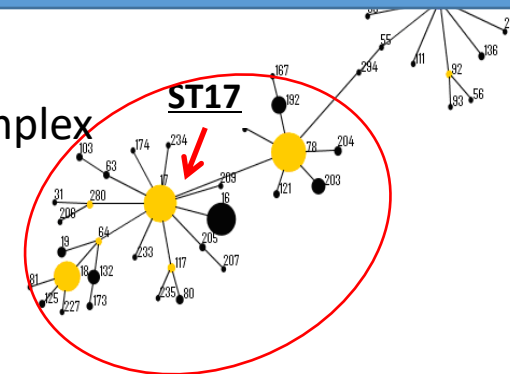
7つの遺伝子ごとに割り振られた数字の並びで
タイプを決める→Sequence Type ST

1-1-1-1-1-1-1	ST17	} CC17
15-1-1-1-1-1-1	ST78	
15-1-1-1-1-20-1	ST203	
7-5-1-18-11-3	ST426	

日本のVanA *E. faecium*
もほとんどCC17

eBURST
似たタイプ (ST) をグループ化する解析手法

CC17
clonal complex



pstS-Null Vancomycin-Resistant *E. faecium* Clone

オーストラリアにおけるVREの増加と疫学像の変化

- オーストラリア
- 2010年ごろまでVanB型*E. faecium*が多かった
- 2012年ごろよりVanA型*E. faecium*が増加
- 2015年ごろから特異的なST株*がオーストラリアで報告される
- *MLSTに用いる7つの遺伝子のうちの一つ (*pstS*) が欠損
- 240株中202株(84.2%)が*pstS*欠損株
- 持ち込み例もあったが、多くのICUでは感染対策を実施していたにもかかわらずアウトブレイクが継続していた
- 医療圏を超えた患者の移動は比較的稀なため広域に拡散した経路は不明 (環境? 健常者?)

英国においても分離報告

Isolate ID	ST	MLST alleles							Origin	van-genotype	Year	
		atpA	ddl	gdh	purK	gyd	pstS	adk				
Aus0004	17	1	1	1	1	1	1	1	1	Australia	van B	1998
Aus0085	203	15	1	1	1	1	1	20	1	Australia	van B	2009
BM4538	17	1	1	1	1	1	1	1	1	Australia	van B	2004
DMG1500761	1423	4	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van B	2014
DMG1500762	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2014
DMG1500766	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2015
DMG1500767	1424	9	1	1	1	1	12	0	1	Australia	van A	2015
DMG1500777	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2015
DMG1500780	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2015
DMG1500783	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2015
DMG1500788	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2015
DMG1500795	1422	1	1	1	1	1	12	0	1	Australia	van A	2015
DMG1500798	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2015
DMG1500799	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2014
DMG1500801	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2014
DMG1500808	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2015
DMG1500822	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2015
E1162	17	1	1	1	1	1	1	1	1	France	negative	1997
E2883	18	7	1	1	1	1	5	1	1	Netherlands	negative	2002
ERR374660	1477	7	2	1	1	1	1	0	1	England	van A	2005
ERR374823	1477	7	2	1	1	1	1	0	1	England	van A	2005
ERR374934	18	7	1	1	1	1	5	1	1	UK	van A	2009
ERR374968	78	15	1	1	1	1	1	1	1	UK	van A	2009
ERR375044	1477	7	2	1	1	1	1	0	1	England	van A	2005
ERR375142	1477	7	2	1	1	1	1	0	1	England	van A	2004
ERR375172	1477	7	2	1	1	1	1	0	1	England	van A	2004
ERR375192	80	9	1	1	1	1	12	1	1	UK	van A	2011
SVH-171	1424	9	1	1	1	1	12	0	1	Australia	van A	2016
SVH-176	1424	9	1	1	1	1	12	0	1	Australia	van A	2016
SVH-189	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2016
SVH-244	1421	1	1	1	1	1	1	0	1	Australia	van A	2016
SVH-278	1424	9	1	1	1	1	12	0	1	Australia	van A	2016
UAA1025	17	1	1	1	1	1	1	1	1	France	van A	1996
VREF001	1424	9	1	1	1	1	12	0	1	Scotland	van A	2017
VREF002	1424	9	1	1	1	1	12	0	1	Scotland	van A	2017
VREF003	262	7	1	1	1	1	5	7	1	Scotland	van A	2017
VREF004	1424	9	1	1	1	1	12	0	1	Scotland	van A	2017
VREF005	1424	9	1	1	1	1	12	0	1	Scotland	van A	2017

J Antimicrob Chemother. 2018 Jun 1;73(6):1487-149

Lemonidis, K., et al. (2019). PLoS One 14(6): e0218185.

デンマークからも報告あり

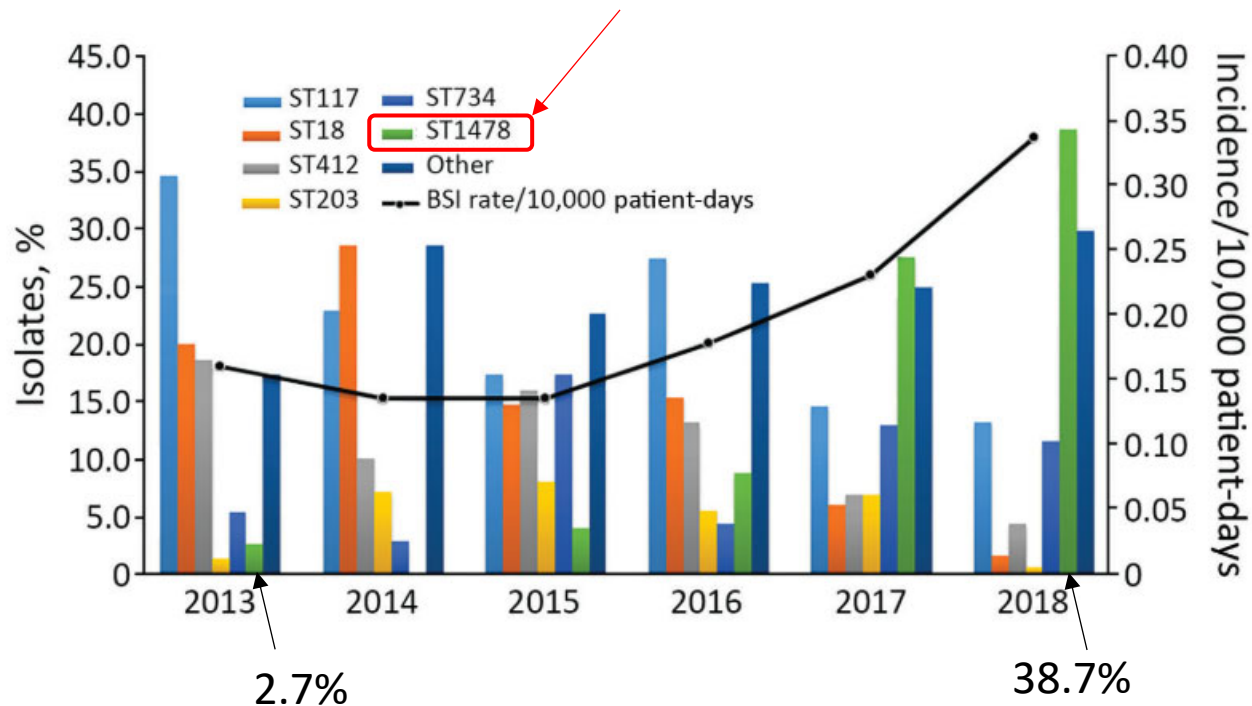
Hammerum *et al.* Euro Surveill. 2019;24:1-5.

カナダにおけるVRE血流感染症の増加

血流感染症由来のVRE（62施設・608株）

VRE血流感染の増加

pstS-Null Vancomycin-Resistant *E. faecium* Clone



- *pstS*-Null バンコマイシン耐性*E. faecium* クローンの増加とVRE血流感染症の増加が一致
- 病原性+病院環境への適応が強化されたクローン？

VRE感染対策を支援するためラボ解析

- 菌種同定・薬剤感受性測定
- バンコマイシン耐性遺伝子の検出

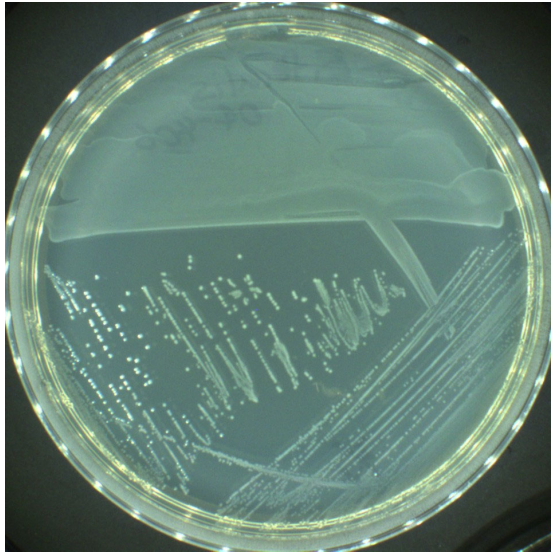
⇒地域におけるVREの流行状況を把握

*E. faecium*以外の菌種におけるVanAは長期蔓延の可能性あり

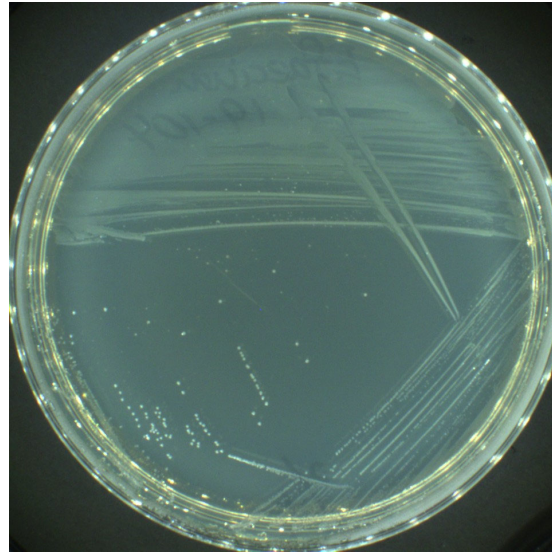
届け出症例由来の菌株解析・データベース化を

- パルスフィールド電気泳動法によるタイピング解析
- MLST（全ゲノム解読）

医療機関におけるスクリーニング・感染対策については
国立感染症研究所令和元年度危機管理研修会資料を参照



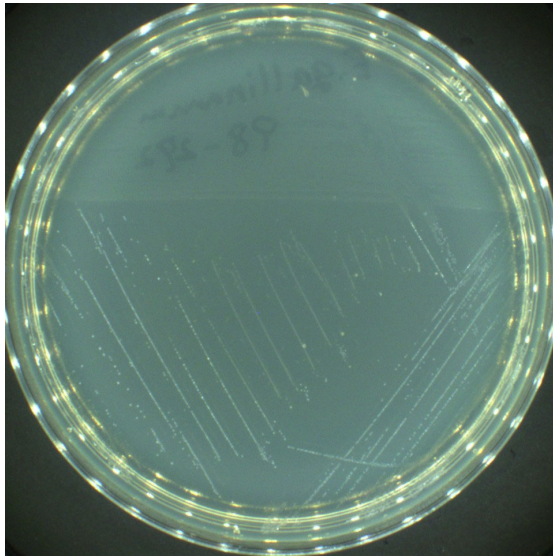
E. faecalis



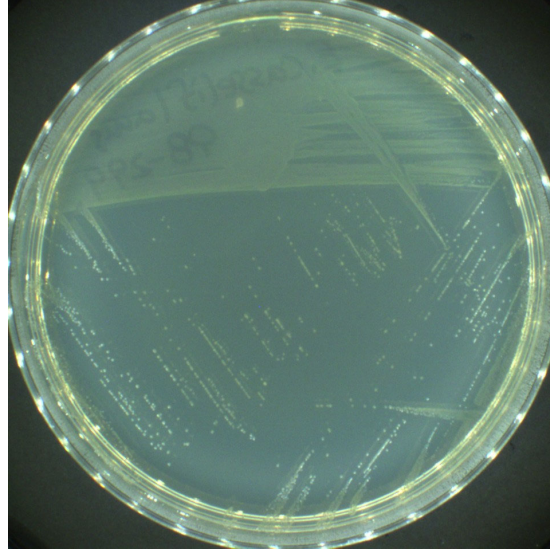
E. faecium

特に*E. faecalis*, *E. faecium*以外の菌種はMH培地での発育悪い
PCR実施時のDNA抽出量に注意

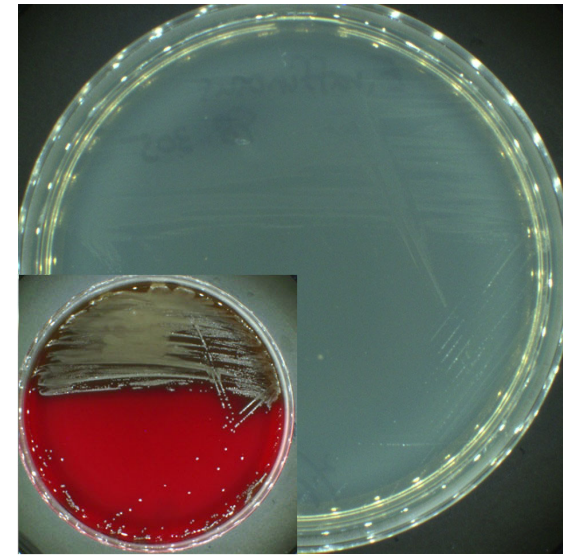
NGSライブラリー、PFGEのDNAプラグ作成時などは多めに接種を
培養は18-24時間
必要に応じて血液寒天



E. gallinarum



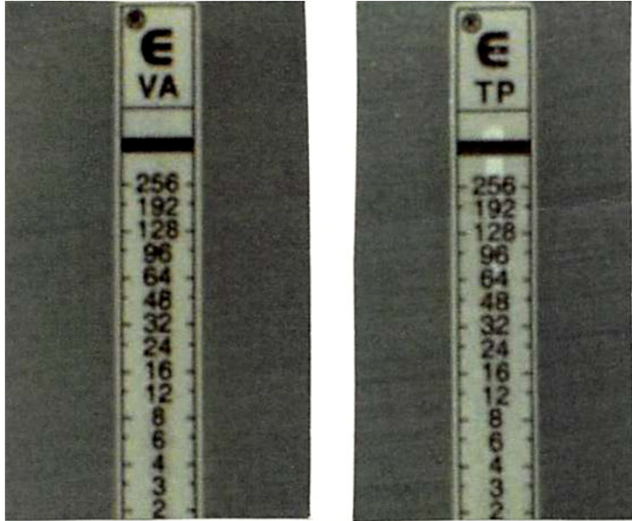
E. casseliflavus



E. raffinosus

MH Agarでの発育が悪い ディスク法、Etestなどの判定困難なときあり
寒天平板希釈法などの併用を検討

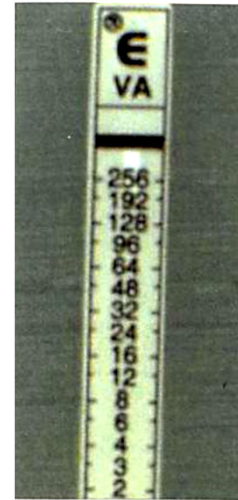
E. faecium VanA



VCM TEIC 両方とも高度耐性

VanA

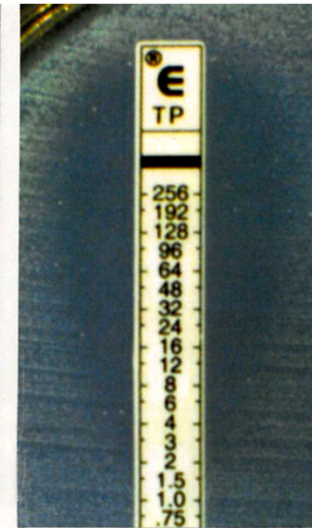
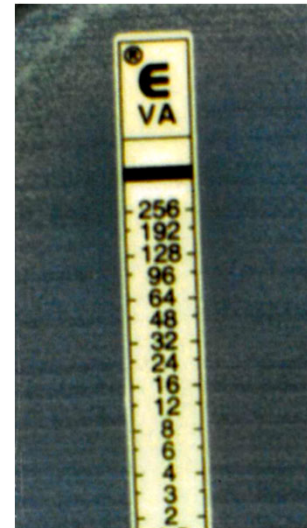
バンコマイシン耐性



テイコプラニン感性



E. raffinosus VanD



PCRによるバンコマイシン耐性遺伝子の検出

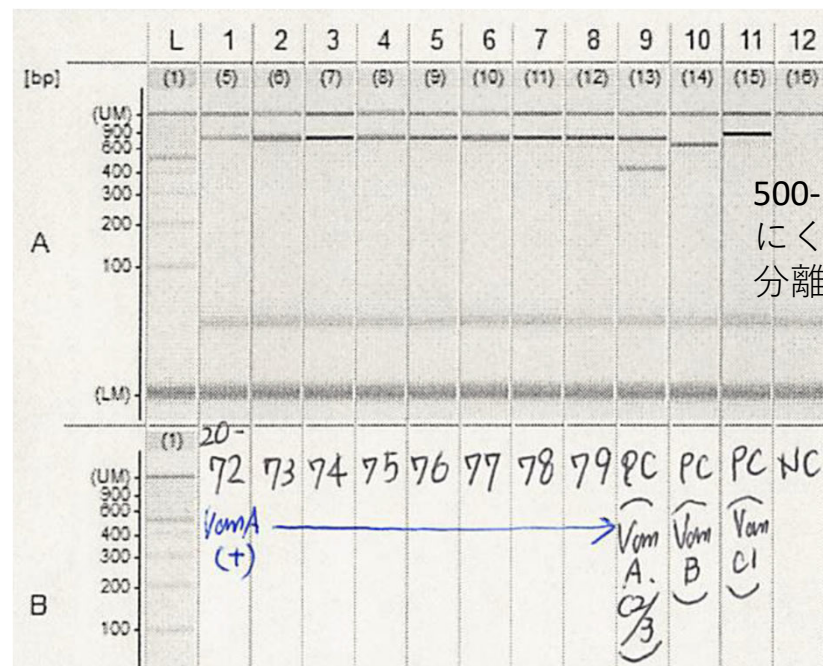
病原体検出マニュアル

3.3.5. Multiplex PCR 法によるバンコマイシン耐性遺伝子の検出

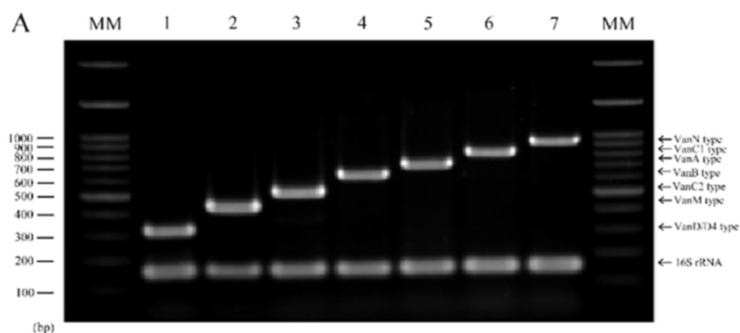
	Primers 5'-3'	PCR 産物サイズ
<i>vanA</i>	<i>vanA</i> -F GGGAAAACGACAATTGC	732 bp
	<i>vanA</i> -R GTACAATGCGGCCGTTA	
<i>vanB</i>	<i>vanB</i> -F ATGGGAAGCCGATAGTC	635 bp
	<i>vanB</i> -R GATTCGTTCTCGACC	
<i>vanC1</i>	<i>vanC1</i> -F GGTATCAAGGAAACCTC	822 bp
	<i>vanC1</i> -R CTTCCGCCATCATAGCT	
<i>vanC2/3</i>	<i>vanC2/3</i> -F CTCTACGATTCTCTTG	439 bp
	<i>vanC2/3</i> -R CGAGCAAGACCTTAAG	

PCR 条件
 95°C-20 sec } 35 cycles
 55°C-120 sec }
 74°C-5 min

非特異バンド（偽陽性）よりも偽陰性のエラーが多い



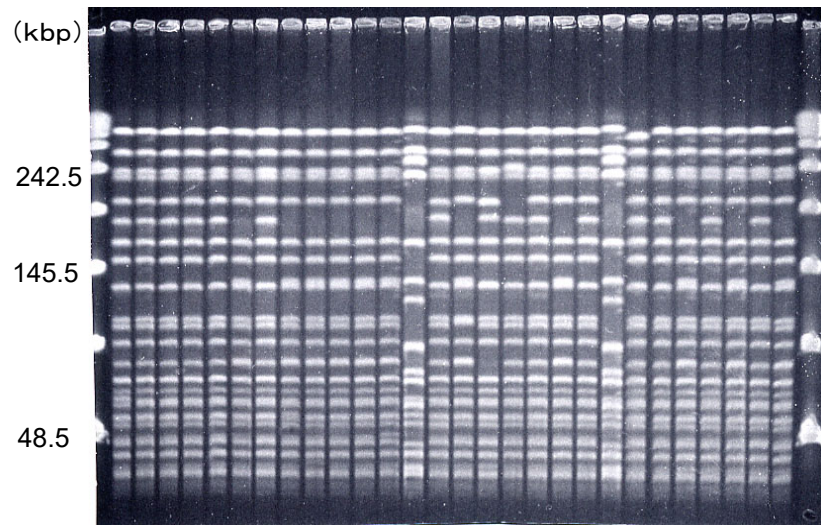
- ほとんどがVanA, VanB, VanCのため、ルーチンでは検出マニュアルのマルチプレックスで可
- VanC1陽性なら*E. gallinarum*、VanC2/3陽性なら*E. casseliflavus*を確認
- バンコマイシン耐性陰性*vanA*, *vanB*かつであれば*vanD*, *vanM*を確認



Nomura *et al.*

Journal of Microbiological Methods 145
 (2018) 69–72

E. faecium PFGE解析



泳動条件

6V 14°C

20kb~200kb (Auto algorithm)

Switching time 2.98s~17.33s,

Run time 26.56hr

DNAプラグ作製条件

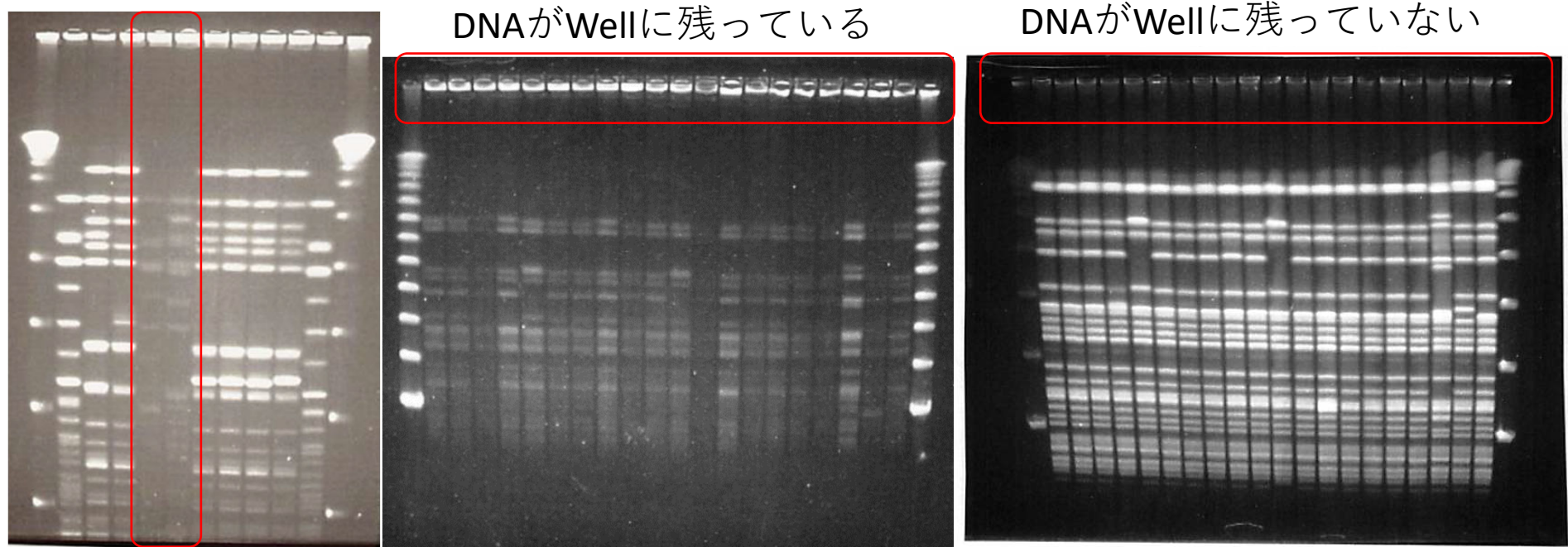
- 菌液610nm OD2.0 (陰性菌よりも濃い)
- リゾチーム処理 1-2mg/ml 20hr
- プロテナーースK処理 1mg/ml 24hr

制限酵素処理

Sma I 30°C Over night

VRE パルスフィールド電気泳動

- スメア化の問題はほとんど生じない
- 溶菌不十分となる場合あり
 - リゾチーム・ProK処理の確実な実施が必要
 - DNA包埋用アガロース濃度に注意（最終濃度1.0%以下）
 - 再リゾチーム・ProK処理で改善の可能性あり



長期化事例・複数のバンドパターンを含む事例
→代表株の全ゲノム解読・MLSTなどを実施しておくが良い

問い合わせ先

taiseikin@nih.go.jp